



CENTRUM ONKOLOGII – INSTYTUT
IM. MARII SKŁODOWSKIEJ-CURIE
ODDZIAŁ W GLIWICACH

AUTOREFERAT

Dr n.med. Mirosław Śnietura

Zakład Patologii Nowotworów

Gliwice 2019

1. Imię i nazwisko

Mirosław Śnietura

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- Dyplom lekarza uzyskany na Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach – Wydział Lekarski w Zabrze z dnia 21 czerwca 1996 roku (z wynikiem ponad dobrym)
- Dyplom inżyniera informatyka uzyskany na Politechnice Opolskiej, Wydział Elektroniki Automatyki i Informatyki w specjalności systemy informatyczne z dnia 26 stycznia 2001 roku (z wynikiem bardzo dobrym)
- Dyplom magistra inżyniera informatyka uzyskany na Politechnice Opolskiej, Wydział Elektroniki Automatyki i Informatyki w specjalności Sieci Komputerowe i Systemy Baz Danych z dnia 3 lipca 2003 roku (wynik bardzo dobry)
- Dyplom doktora nauk medycznych w dziedzinie medycyna z dnia 26 października 2011 roku. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Ocena wartości prognostycznej i predykcyjnej ekspresji genu PTEN oraz infekcji HPV u chorych na raka płaskonabłonkowego regionu głowy i szyi.”

Promotor pracy: prof. nadzw. dr hab. Dariusz Lange.

Recenzenci: prof.dr hab. Jan Bręborowicz, prof.dr hab. Rafał Suwiński.

Praca obroniona z wyróżnieniem.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

- 1997 – 1999** II Katedra i Klinika Ginekologii i Położnictwa Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, Wydział Lekarski w Zabrze,
lekarz – młodszy asystent
- 1999 – nadal** Zakład Patologii Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie oddział w Gliwicach
- 1999 – 2012** młodszy asystent, lekarz
- 2012 – 2016** asystent naukowo-badawczy
- 2014 – nadal** zastępca Kierownika Zakładu Patologii Nowotworów
- 2016 – nadal** adiunkt

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.)

Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Cykl publikacji pod tytułem:

„Rola wirusa brodawczaka ludzkiego w nowotworach wybranych lokalizacji pozagenitalnych.”

Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

- 1. Mirosław Śnietura**, Dariusz Waniczek, Ewa Nowakowska-Zajdel, Wojciech Pięgowski, Agnieszka Kopeć, Małgorzata Muc-Wierzoń
Does human papilloma virus participate in colorectal carcinogenesis?
Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents. 2012; 26(4):757-62

Impact factor: IF = 2,406 KBN/MNiSW = 20

Wkład habilitanta w powstanie pracy polegał na zaproponowaniu koncepcji, zaplanowaniu i koordynacji badania, doborze grup badanych oraz metod badawczych, weryfikacji próbek tkankowych pod kątem rozpoznań histopatologicznych oraz adekwatności do badań molekularnych, wykonaniu części prac laboratoryjnych związanych z przygotowaniem, przeprowadzeniem oraz interpretacją wyników RealTime PCR, interpretacji wyników barwień immunohistochemicznych, zgromadzeniu, zestawieniu, analizie i interpretacji uzyskanych wyników, napisaniu i przygotowaniu całości manuskryptu pracy wraz z rycinami i mikrofotografiami.

Wkład własny pracy szacuję na 75%.

- 2. Mirosław Śnietura**, Dariusz Waniczek, Wojciech Pięłowski, Agnieszka Kopeć, Ewa Nowakowska-Zajdel, Zbigniew Lorenc, Małgorzata Muc-Wierżgoń
Potential role of human papilloma virus in the pathogenesis of gastric cancer.
World Journal of Gastroenterology. 2014; 20(21):6632-7

Impact factor: IF = 2,369 KBN/MNiSW = 25

Wkład habilitanta w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji, zaplanowaniu i koordynacji badania, doborze grup badanych oraz metod badawczych, weryfikacji próbek tkanki pod kątem rozpoznań histopatologicznych oraz adekwatności do badań molekularnych, wykonaniu części prac laboratoryjnych związanych z przygotowaniem, przeprowadzeniem oraz interpretacją wyników RealTime PCR, interpretacji wyników barwień immunohistochemicznych, zgromadzeniu i zestawieniu uzyskanych wyników, napisaniu i przygotowaniu tekstu manuskryptu pracy wraz z rycinami i mikrofotografiami, korespondencji z redakcją i przygotowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

Wkład własny pracy szacuję na 70%.

- 3. Mirosław Śnietura**, Tomasz Rutkowski, Wojciech Pięłowski, Agata Hajduk, Andrzej Wygoda, Krzysztof Składowski, Dariusz Lange
Human papillomavirus DNA in pharyngeal scrapes as a marker of HPV-related squamous cell cancer of the oropharynx.
Journal of Clinical Virology. 2015; 71:34-9

Impact factor: IF = 2,647 KBN/MNiSW = 25

Wkład habilitanta w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji, zaplanowaniu i koordynacji badania, doborze grup badanych oraz metod badawczych, weryfikacji rozpoznań histopatologicznych, zebraniu próbek/bloczków parafinowych oraz ich ocenie pod kątem przydatności do badań molekularnych, wykonaniu części prac laboratoryjnych związanych z izolacją DNA z materiału tkankowego i cytologicznego, przygotowaniem, przeprowadzeniem oraz interpretacją wyników RealTime PCR, wykonaniem oznaczeń oraz interpretacji wyników barwień immunohistochemicznych, zgromadzeniu, zestawieniu i analizie statystycznej

uzyskanych wyników, napisaniu i przygotowaniu całości manuskryptu pracy wraz z rycinami i mikrofotografiami, korespondencji z redakcją i sformułowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

Wkład własny pracy szacuję na 75%.

4. Mirosław Śnietura, Roman Lamch, Agnieszka Kopec, Dariusz Waniczek, Wirginia Likus, Dariusz Lange, Jarosław Markowski

Oral and oropharyngeal papillomas are not associated with high-risk human papillomavirus infection.

European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. 2017; 274(9):3477-3483

Impact factor: IF = 1,546 KBN/MNiSW = 25

Wkład habilitanta w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji, zaplanowaniu i koordynacji badania, doborze metod badawczych, weryfikacji rozpoznań histopatologicznych, kwalifikacji części pacjentów do badania i zgromadzeniu ich materiału histopatologicznego (grupa chorych z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego), ocenie wszystkich próbek/bloczków parafinowych pod kątem przydatności do badań molekularnych, wykonaniu części prac laboratoryjnych związanych z przygotowaniem, przeprowadzeniem oraz interpretacją wyników RealTime PCR dla wirusów z grupy wysokiego i niskiego potencjału onkogenego, interpretacji wyników barwień immunohistochemicznych, zgromadzeniu, zestawieniu i analizie statystycznej uzyskanych wyników, napisaniu i przygotowaniu kompletnego manuskryptu pracy wraz z rycinami i mikrofotografiami, korespondencji z redakcją i sformułowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

Wkład własny pracy szacuję na 75%.

5. Mirosław Śnietura, Liliana Chełmecka-Wiktorczyk, Sławomir Pakuło, Agnieszka Kopec, Wojciech Pięłowski, Grażyna Drabik, Bogdan Kosowski, Łukasz Wyrobek, Agata Stanek-Widera, Walentyna Balwierz

Vertically transmitted HPV-dependent squamous cell carcinoma of the external auditory canal: Case report of a child.

Strahlentherapie und Onkologie. 2017;193(2):156-16

Impact factor: IF = 2,459 KBN/MNiSW = 25

Wkład habilitanta w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji pracy i koordynacji jej realizacji, zaplanowaniu diagnostyki uzupełniającej mającej na celu udowodnienie infekcji HPV oraz jej wertykalnej transmisji, zgromadzeniu danych klinicznych dotyczących przebiegu choroby i leczenia, wyników badań obrazowych, wyników badań histopatologicznych, ich weryfikacji mikroskopowej, zebraniu materiału histopatologicznego od matki i dziecka (błoczki) do badań molekularnych, wykonaniu części prac laboratoryjnych związanych z przygotowaniem, przeprowadzeniem oraz interpretacją wyników RealTime PCR, interpretacji wyników barwień immunohistochemicznych, napisaniu i przygotowaniu manuskryptu pracy wraz ze wszystkimi rycinami, foto- i mikrofotografiami, korespondencji z redakcją i sformułowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

Wkład własny pracy szacuję na 70%.

6. Agnieszka Mazurek, Tomasz Rutkowski, **Mirosław Śnietura**, Wojciech Pięłowski, Rafał Suwiński, Krzysztof Składowski

Detection of circulating HPV16 DNA as a biomarker in the blood of patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma.

Head & Neck. 2019;41(3):632-641

Impact factor: IF = 2,471 KBN/MNiSW = 40

Wkład habilitanta w powstanie tej pracy polegał na badaniach mających na celu udowodnienie infekcji HR HPV w tkance guza pierwotnego tj.: zebraniu materiału histopatologicznego oraz jego ocenie i wyborze do badań molekularnych, wykonaniu części prac laboratoryjnych związanych z przygotowaniem, przeprowadzeniem oraz interpretacją wyników qPCR na materiale tkankowym oraz weryfikacji infekcji HPV metodą immunohistochemiczną w tym materiale. Ponadto na udziale w redagowaniu części manuskryptu pracy związanej z wykorzystaną metodyką badawczą i wynikami w zakresie statusu HPV w guzie pierwotnym oraz uczestnictwie w zatwierdzeniu ostatecznej wersji pracy.

Wkład własny pracy szacuję na 15%.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania prac stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy:

IF = 13,898 KBN/MNiSW = 160

Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Przedmiotem prac prezentowanego cyklu było zbadanie roli wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) w patogenezie wybranych nowotworów układu oddechowego i przewodu pokarmowego oraz wykazanie jego przydatności w charakterze czynnika prognostycznego lub predykcyjnego w tych nowotworach.

Wirus brodawczaka ludzkiego (*ang. Human Papillomavirus*) należy do rodziny Papillomaviridae - grupy małych wirusów zawierających jako materiał genetyczny kolisty, dwuniciowy DNA zamknięty w białkowym, ikosahedralnym kapsydie, średnicy około 55nm, pozbawionym otoczki lipidowej. Wirusy te mają zdolność infekowania i namnażania się jedynie w komórkach nabłonkowych naskórka oraz błon śluzowych człowieka oraz niektórych naczelnych.

Na podstawie analizy sekwencji genomu HPV zidentyfikowano obecnie znacznie ponad 120 typów filogenetycznych należących do 16 rodzajów, z których największe znaczenie z punktu widzenia onkologii mają wirusy z rodzaju alfa wywołujące infekcje głównie błon śluzowych oraz skóry. W odniesieniu do patologii szyjki macicy praktycznie nie istnieją dowody na onkogenne działanie wirusów HPV innych niż alfa rodzajów.¹ Biorąc pod uwagę zdolność do wywoływania transformacji nowotworowej wirusy brodawczaka

¹ Human papillomaviruses. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2007;90:1-636.

ludzkiego z rodzaju alfa można podzielić na posiadające niski (LR, *ang. low risk*) oraz wysoki potencjał onkogenny (HR, *ang. high risk*). Wirusy o niskim potencjale onkogennym odpowiedzialne są za powstawanie łagodnych, brodawczakowatych zmian na błonach śluzowych okolic genitalnych (np. kłykciny kończyste) oraz układu oddechowego i początkowego odcinka układu pokarmowego (np. brodawczaki krtani czy jamy ustnej). Choć samodzielnie nie stanowią czynnika ryzyka onkologicznego, niejednokrotnie wykrywane były obok wirusów o wysokim potencjale onkogennym w tkankach guzów złośliwych. Zjawisko to badane było przez habilitanta w odniesieniu do zmian brodawczakowatych jamy ustnej i gardła w pracy #4. Do najbardziej rozpowszechnionych typów z tej grupy należą HPV6, HPV11, HPV40, HPV42, HPV43.¹

Osobną grupę ze względu na zainteresowanie onkologów stanowią wirusy o wysokim potencjale onkogennym, odpowiedzialne za 5% nowotworów złośliwych z blisko 570 tys. nowych zachorowań wśród kobiet i 60 tys. nowych zachorowań rocznie u mężczyzn. Wszystkie HR HPV zaliczane są do rodzaju alfa i stanowią czynnik etiologiczny szeregu nowotworów złośliwych, z których największe znaczenie ma rak szyjki macicy. DNA HPV wysokiego ryzyka onkogennego wykrywany jest w blisko 99% próbek tkanki raka szyjki macicy, zarówno płaskonabłonkowego jak i gruczołowego, a przetrwałą infekcję HR HPV uznaje się za przyczynę rozwoju tego nowotworu. Przeważająca większość tych infekcji wywołwana jest przez HPV16, który wykazuje największy potencjał transformacji nowotworowej. Łącznie z pozostałymi, rzadziej występującymi 13 typami (odpowiednio 18, 33, 45, 31, 58, 52, 35, 39, 59, 51, 56, 68, 53) o mniejszym potencjale onkogennym odpowiedzialny jest on za blisko 95% przetrwałych infekcji HPV w raku szyjki macicy.² Nie ulega wątpliwości, że HR HPV z HPV16 na czele odpowiedzialne są za rozwój znacznej części innych nowotworów nabłonkowych w tym: 90% raka odbytu, 75% raka pochwy i/lub sromu, 70% raka gardła środkowego głównie migdałka (dane epidemiologiczne z USA) oraz blisko 60% raka prącia. Udział HR HPV w patogenezie nowotworów innych lokalizacji pozostaje dyskusyjny. Pod uwagę brane są: rak jamy nosowej i zatok, jamy ustnej, krtani, płuc, przełyku, rak piersi, skóry czy prostaty. Przedmiotem debaty jest udział HR HPV jako czynnika etiologicznego raków przewodu pokarmowego, zwłaszcza

²Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;100(Pt B):1-441

żołądka i jelita grubego² co stało się przedmiotem zainteresowania habilitanta w pracy #1 oraz #2.

Szczególnie interesującym zagadnieniem wydaje się rola HPV w etiologii raka płaskonabłonkowego regionu głowy i szyi. Obecnie infekcja HR HPV uznawana jest za alternatywny w stosunku do klasycznych (alkohol, tytoń) czynnik ryzyka, o coraz większym znaczeniu ze względu na znaczną dynamikę wzrostu zachorowalności na HPV-zależne postaci tego nowotworu.³ Dodatkowo, jak wykazały badania kilku autorów⁴ w tym habilitanta⁵ raki HPV-pozytywne charakteryzują się odmiennym przebiegiem klinicznym w stosunku do przypadków uwarunkowanych czynnikami klasycznymi. Manifestacją tej odmienności jest lepsza odpowiedź na leczenie oraz dłuższy całkowity czas przeżycia pomimo większego zaawansowania choroby w momencie diagnozy. Efekt ten jest na tyle silny, że udało się go wykazać habilitantowi już w pracy doktorskiej na relatywnie małej grupie chorych HPV-pozytywnych.⁵ Dobre rokowanie chorych z HPV-zależnym rakiem płaskonabłonkowym gardła może być cenną informacją w trakcie leczenia, dlatego możliwość określenia statusu HPV w łatwy, a najlepiej bezinwazyjny sposób byłoby cennym badaniem diagnostycznym. W pracy #3 została przez habilitanta zaproponowana oraz scharakteryzowana pod względem parametrów analitycznych i przydatności klinicznej metoda oceny statusu HPV w wymazach cytologicznych z gardła.

Opisywana wyżej odmienność biologiczna i kliniczna HPV-pozytywnych raków płaskonabłonkowych regionu głowy i szyi wydaje się nie być ograniczona wyłącznie do gardła oraz dorosłych chorych. Argumentem przemawiającym za tą odmiennością, mającą zastosowanie przynajmniej w odniesieniu do raka przewodu słuchowego zewnętrznego, dodatkowo w wieku dziecięcym, może być opisany przez habilitanta i współpracowników pierwszy przypadek zaawansowanego, HPV-pozytywnego raka przewodu słuchowego o nadzwyczaj dobrym rokowaniu, przedstawiony w pracy #5.

³ A.K. Chaturvedi, E.A. Engels, W.F. Anderson, M.L. Gillison (2008) Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol.* 26:612-619

⁴ K.K. Ang, J. Harris, R. Wheeler, R. Weber, D.I. Rosenthal et al. (2010) Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 363:24-35

⁵ M. Śnietura, W. Pigłowski, M. Jaworska, A. Mucha-Malecka, G. Wozniak, D. Lange, R. Suwinski (2011) Impact of HPV infection on the clinical outcome of p-CAIR trial in head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 268(5):721-6

Jednocześnie udowodniona została w niej możliwość transmisji infekcji HR HPV z matki na dziecko.

Możliwość oceny statusu HPV w charakterze czynnika prognostycznego i/lub predykcyjnego nie ogranicza się wyłącznie do guza pierwotnego. W dostępnej literaturze wykazano obecność DNA wirusa we krwi chorych na nowotwory HPV-zależne, w szczególności na raka szyjki macicy. Możliwość wykrycia DNA HPV16 we frakcji wolnego, krążącego DNA oraz wykorzystania go w charakterze biomarkera infekcji istnieje także w odniesieniu do osocza chorych na HPV-zależnego raka gardła środkowego, co wykazane zostało przez habilitanta i współpracowników w pracy #6. Równie interesujące może być zastosowanie DNA HPV w charakterze markera krążących komórek nowotworowych (CTC, *ang. circulating tumor cells*). Biorąc pod uwagę odmienne podłoże biologiczne ich powstawania, związane z procesem przerzutowania, wykrywanie HPV-pozytywnych CTC we krwi pacjenta przed oraz w trakcie leczenia mogłoby stanowić cenne narzędzie monitorowania odpowiedzi na leczenie i pojawienie się wznów. Badania w tym zakresie, wykorzystujące układy mikroprzepływowe do bezznacznikowej izolacji CTC oraz DNA HR HPV jako markera komórek nowotworowych stanowią kontynuację zainteresowań habilitanta i będą realizowane w najbliższym czasie w ramach grantu wewnętrznego COI oddział w Gliwicach.

Elementem wspólnym prezentowanego cyklu prac, wymagającym osobnego omówienia jest zastosowana w nich metodyka badawcza dotycząca wykrywania infekcji onkogennymi typami wirusów brodawczaka. W literaturze opisywane są różne metody detekcji HPV różniące się zarówno zasadą samego oznaczenia, jak i podstawowymi parametrami analitycznymi jak czułość i swoistość metody. Ze względu na zasadę działania można je podzielić na bezpośrednie, wykrywające czynnik etiologiczny w postaci samego wirusa, lub pośrednie wykazujące skutki jego oddziaływania na organizm gospodarza. Z metod bezpośrednich zdecydowanie najczulszą jest polimerazowa reakcja łańcuchowa (PCR, *ang. polymerase chain reaction*) ze względu na wykorzystanie zjawiska swoistej amplifikacji nawet znikomych ilości DNA wirusa. Pozwala ona na wykrycie nawet kilkudziesięciu kopii wirusa w badanej próbce. Dużą popularnością, zwłaszcza jako rutynowa metoda diagnostyczna cieszy się inna, pośrednia technika - hybrydyzacja kwasów nukleinowych (HC, Hybrid capture), która

jednak ze względu na brak etapu amplifikacji patogenu charakteryzuje się mniejszą czułością. Podstawową wadą metod bezpośrednich jest możliwość wykazania wyłącznie obecności patogenu a nie jego faktycznej aktywności biologicznej. Z drugiej strony metody pośrednie wykazują się gorszą czułością i laboratoryjną swoistością. Najbardziej uznaną metodą pośrednią, wykorzystywaną do wykrywania biologicznych efektów infekcji wysokoonkogennymi typami wirusa brodawczaka jest immunohistochemiczne wykazanie akumulacji białka p16(INK4A) w patologicznej tkance, jako efekt hamowania aktywności genu retinoblastomy (*RB1*) przez wirusową onkoproteinę E7. Nadekspresja białka p16(INK4A) określana jest mianem markera zastępczego infekcji HPV (ang. *surrogate HPV marker*)⁶. Niestety akumulacja białka p16(INK4A) może mieć też inne, uwarunkowane genetycznie lub epigenetycznie przyczyny (np. mutacja genu *RB1* lub hypermetylacja jego promotora), dlatego w świetle ostatnich doniesień, o markerze zastępczym możemy mówić co najwyżej w przypadku raków gardła środkowego.⁷ Z tego powodu w omawianym cyklu prac, w celu maksymalizacji czułości i swoistości metody dla wykazania etiologii wirusowej posługiwano się algorytmem łączonym detekcji jednocześnie DNA 14 typów wysokoonkogennych HPV stanowiących 93% liczby najczęściej spotykanych w warunkach europejskich oraz akumulacji białka p16(INK4A) jako potwierdzenie ich aktywności w badanej tkance. Algorytm ten, zaproponowany po raz pierwszy przez Smeets'a i wsp.⁸ cechuje się wysoką czułością i swoistością, jednakże ze względu na stosunkowo wysoki koszt i złożoność procedury nie jest rutynowo wykorzystywany w diagnostyce.

⁶ H. Wang, R. Sun, H. Lin, W.H. Hu (2013). P16INK4A as a surrogate biomarker for human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinoma: consideration of some aspects. *Cancer Sci.* 104, 1553–1559.

⁷ L. Jouhi, J. Hagström, T. Atula, A. Mäkitie (2017). Is p16 an adequate surrogate for human papillomavirus status determination? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 25, 108–112.

⁸ S.J. Smeets, A.T. Hesselink, E.M. Speel, A. Haesevoets et al. (2007). A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. *Int. J. Cancer* 121, 2465–2472.

Szczegółowe omówienie artykułów cyklu

ad.1 Mirosław Śnietura, Dariusz Waniczek, Ewa Nowakowska-Zajdel, Wojciech Pięłowski, Agnieszka Kopeć, Małgorzata Muc-Wierzoń
Does human papilloma virus participate in colorectal carcinogenesis?
Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents. 2012; 26(4):757-62

Związek pomiędzy infekcją wirusem brodawczaka ludzkiego wysokiego potencjału onkogennego a stanami przedrakowymi lub rakiem jelita grubego nie został dotychczas jednoznacznie ustalony. W zależności od zastosowanych metod diagnostycznych oraz rodzaju badanych zmian, częstość detekcji HR HPV oceniana jest przez różnych autorów w granicach pomiędzy 0% a 97% dla raków oraz 0% a 60% dla polipów gruczołowych.

Celem pracy było retrospektywne określenie przy pomocy podwójnego algorytmu detekcyjnego obecności DNA wirusów z grupy HR HPV oraz ich aktywności biologicznej w tkankach polipów i raków gruczołowych jelita grubego. Materiał do badań stanowiły bloczki parafinowe pochodzące od 50 pacjentów z rozpoznaniem gruczolaka (40) lub gruczolaka (10), z których uzyskiwano izolaty DNA do badania RealTime PCR dla 14 najczęściej występujących typów onkogennych oraz skrawki parafinowe do barwień immunohistochemicznych w celu wykazania akumulacji białka p16(INK4A).

W badanej grupie nie wykazano obecności DNA HR HPV żadnego z typów wykrywanych przez metodę ani nie stwierdzono akumulacji białka p16(INK4A) w żadnym przypadku. W tym zakresie oba badania dały zgodne wyniki, które wydają się świadczyć przeciw udziałowi HR HPV w patogenezie przeważającej części raków jelita grubego. Uzyskane wyniki są zgodne z obserwacjami części autorów, szczególnie tych, którzy w metodyce badań wykorzystywali ścisłą prewencję kontaminacji próbki oraz równoległe różne metody dla wzajemnego potwierdzenia wyników. Kwestią otwartą pozostaje udział HR HPV w patogenezie niezwykle rzadko spotykanych w tej okolicy raków płaskonabłonkowych, których nie zawierała uwzględniona w badaniu próba.

*ad.2 Mirosław Śnietura, Dariusz Waniczek, Wojciech Pigłowski, Agnieszka Kopeć, Ewa Nowakowska-Zajdel, Zbigniew Lorenc, Małgorzata Muc-Wierzoń
Potential role of human papilloma virus in the pathogenesis of gastric cancer.
World Journal of Gastroenterology; 2014; 20(21):6632-7*

W patogenezie raka żołądka, obok klasycznych czynników ryzyka jak palenie tytoniu, spożycie alkoholu oraz wędzonych i konserwowanych produktów żywnościowych pod uwagę brane są czynniki zakaźne, w tym obok *Helicobacter pylori* infekcje wirusami onkogennymi EBV i HPV. O ile rola HPV w onkogenezie części raków przełyku wydaje się bezdyskusyjna, to w przypadku raków połączenia przełykowo-żołądkowego czy samego żołądka prezentowane dane są niejednoznaczne i często sprzeczne. Opublikowano szereg doniesień z badań przeprowadzonych głównie w rejonie Azji i Dalekiego Wschodu, wskazujących na wysoki, dochodzący do 68% odsetek HPV-pozytywnych raków żołądka. Z drugiej strony w wielu badaniach nie udało się wykazać obecności HPV w tkankach guza, a dane pochodzące z populacji Europejskiej w tym zakresie są bardzo skąpe.

Celem pracy było określenie częstości występowania infekcji onkogennymi typami wirusa brodawczaka ludzkiego w tkankach gruczołakoraka żołądka, przy pomocy podwójnego algorytmu diagnostycznego obejmującego wykrywanie DNA 14 typów wirusów z grupy HR HPV z jednoczesnym potwierdzeniem ich aktywności biologicznej metodą immunohistochemiczną.

Badanie miało charakter retrospektywny i objęło 89 pacjentów odmiany kaukaskiej z rozpoznaniem raka żołądka, po przebytych radykalnym leczeniu operacyjnym. Materiał do badań stanowiły archiwalne bloczki parafinowe z utkaniem guza pierwotnego, z których izolowano DNA do badania PCR oraz wykonywano preparaty immunohistochemiczne w celu wykazania akumulacji białka p16(INK4A).

W badanym materiale nie stwierdzono obecności genomu żadnego z 14 wykrywanych przez metodę wirusów o wysokim potencjale onkogennym. W żadnym przypadku nie wykazano również charakterystycznej dla aktywnej infekcji HPV, masywnej ekspresji białka p16(INK4A), uzyskując pełną zgodność wyników obu metod. W 4 przypadkach obserwowano ogniskową ekspresję p16(INK4A), jednakże jej charakter nie był typowy dla znanej z literatury akumulacji związanej z HR HPV.

W świetle uzyskanych wyników udział HR HPV w patogenezie raków gruczołowych żołądka w populacji odmiany kaukaskiej zamieszkującej tereny Europy Środkowo-Wschodniej wydaje się praktycznie marginalny. W tym zakresie wyniki są zgodne z badaniami kilku innych autorów, którzy nie potwierdzili obecności wirusa HPV w guzach nowotworowych wywodzących się z różnych części anatomicznych żołądka, łącznie z wpustem. W ostatnim okresie wyniki niniejszego badania potwierdzone zostały także w podobnej populacji lecz mniejszej grupie w pracy Vošmik i współpracowników⁹

ad.3 Mirosław Śnietura, Tomasz Rutkowski, Wojciech Pigłowski, Agata Hajduk, Andrzej Wygoda, Krzysztof Składowski, Dariusz Lange
Human papillomavirus DNA in pharyngeal scrapes as a marker of HPV-related squamous cell cancer of the oropharynx.
Journal of Clinical Virology. 2015; 71:34-9

Rola wirusa brodawczaka ludzkiego o wysokim potencjale onkogennym jako czynnika etiologicznego w części przypadków raka płaskonabłonkowego regionu głowy i szyi, a w szczególności gardła środkowego została jednoznacznie potwierdzona. HPV-zależne raki gardła środkowego ze względu na odmienny patomechanizm jak i charakterystykę kliniczną, związaną z lepszym rokowaniem, traktowane są obecnie jako odrębna grupa, w której prowadzone są badania mające na celu ocenę skuteczności mniej obciążających chorego schematów leczenia. Dlatego też, duże zainteresowanie onkologów budzą metody diagnostyczne pozwalające w sposób szybki i małoinwazyjny określić status HPV guza pierwotnego.

Biorąc pod uwagę fakt, że wielokrotnie dostępność materiału histopatologicznego z guza jest ograniczona, wskazane jest wykorzystanie w celach diagnostycznych innego materiału. Dlatego w pracy tej zaproponowano wykorzystanie w tym celu wymazów cytologicznych pobieranych z gardła chorego.

Celem niniejszego badania było określenie analitycznej czułości i swoistości oraz przydatności klinicznej metody oceny statusu HR HPV przy pomocy testu RealTime PCR wykonywanego na materiale pobranym na drodze wymazu z gardła.

⁹ Vošmik M, Vošmiková H, Sieglová K, Sirák I, Laco J, et al. (2018) HPV Status and Mutation Analysis Using Multiparallel Sequencing in Distal Oesophageal and Gastro-oesophageal Junction Adenocarcinomas. Folia Biol (Praha). 64(2):41-45.

Badanie miało charakter prospektywny i objęło 90 pacjentów. Kwalifikowani byli chorzy z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, gardła lub krtani, dla których dostępne były bloczki parafinowe z utkaniem guza pierwotnego. Status HR HPV określany był każdorazowo z wykorzystaniem algorytmu podwójnego obejmującego detekcję DNA 14 typów HR HPV w tkance guza oraz barwienie immunohistochemiczne dla wykazania nadekspresji białka p16(INK4A) w roli znacznika jego aktywności biologicznej. Za dodatnie uznawane były przypadki współistnienia DNA wirusa z towarzyszącą akumulacją białka p16(INK4A) - stanowiły one złoty standard i punkt odniesienia w dalszych analizach. Od każdego pacjenta pobierany był wymaz z powierzchni guza lub ze struktur gardła środkowego w przypadku braku widocznego guza. Z tak pobranego materiału izolowano DNA, w którym oznaczano obecność HR HPV tym samym testem, którego używano w przypadku izolatów pochodzących z próbek tkanki guza.

Spośród 88 analizowanych przypadków, na podstawie statusu HPV określonego w tkance guza, jako prawdziwie pozytywne sklasyfikowane zostały 23, natomiast prawdziwie negatywne 63 przypadki. W pozostałych dwóch wykryto jedynie DNA HR HPV bez potwierdzenia jego aktywności biologicznej w badaniu immunohistochemicznym. Obecność HR HPV potwierdzono także we wszystkich wymazach pochodzących od chorych z dodatnimi wynikami badania PCR materiału tkankowego z guza (25 przypadków) co odpowiada 100% czułości metody oraz po uwzględnieniu 2 przypadków sklasyfikowanych jako fałszywie pozytywne - 97% specyficzności.

W zakresie parametrów rokowniczych analizowanych w pracy, grupa pacjentów sklasyfikowanych jako HPV-pozytywni na podstawie wyników proponowanego badania bazującego na wymazach z gardła, charakteryzowała się znamienne dłuższymi: czasem wyleczeń loko-regionalnych (odpowiednio 29 miesięcy w grupie HPV(+) wobec 22 miesięcy dla HPV(-)), czasem wolnym od choroby (30 miesięcy wobec 22 miesięcy) oraz całkowitym czasem przeżycia (31 miesięcy dla HPV(+) względem 25 miesięcy dla HPV(-)). Analogicznie, odpowiednie względne ryzyka w grupie HPV(+) zdefiniowanej na podstawie badania PCR wykonanego z wymazów wynosiły: dla wznowy loko-regionalnej – 0.118, dla nawrotu choroby – 0,084 oraz 0,0 dla zgonu z powodu choroby.

W podsumowaniu należy stwierdzić, iż zaproponowana metoda oceny statusu HR HPV przy pomocy testu RealTime PCR wykonanego na materiale pochodzącym z wymazu

z gardła chorych na raka płaskonabłonkowego głowy i szyi daje wyniki wysoce zgodne z uzyskiwanymi bezpośrednio z materiału tkankowego i może być z powodzeniem zastosowana przy ocenie rokowania u tych chorych.

*ad.4 Mirosław Śnietura, Roman Lamch, Agnieszka Kopeć, Dariusz Waniczek, Wirginia Likus, Dariusz Lange, Jarosław Markowski
Oral and oropharyngeal papillomas are not associated with high-risk human papillomavirus infection.
European Archives of Oto-Rhino-Laryngology. 2017; 274(9):3477-3483*

Infekcje wysokoonkogennymi typami wirusa brodawczaka ludzkiego w początkowych odcinkach układu oddechowego i pokarmowego nie są jedynymi, interesującymi z punktu widzenia onkologii stanami chorobowymi. Stosunkowo często opisywane są w tej okolicy także łagodne zmiany gruczolakowate, wiązane tradycyjnie z infekcją typami HPV o niskim potencjale onkogennym, z których najczęściej wykrywane są typy HPV6 i HPV11, będące także odpowiedzialne za rozwój brodawczakowatych zmian okolic odbytu i narządów płciowych zwanych kłykcinami. Istnieją doniesienia wskazujące na współwystępowanie w kłykcinach kończystych infekcji typami wysoko- i nisko onkogennymi, co skutkuje zwiększonym ryzykiem rozwoju zmian złośliwych w ich obrębie. Znanym faktem jest również możliwość przeniesienia infekcji z kłykcin do dróg oddechowy, na przykład w trakcie porodu, co może skutkować mnogą gruczolakowatością krtani u dziecka. U dorosłych częściej spotykane są zmiany gruczolakowate izolowane, zlokalizowane w obrębie jamy ustnej lub gardła. Fenomen współistnienia infekcji LR i HR HPV w okolicach ano-genitalnych stał się podstawą sformułowania hipotezy, że podobne zjawisko może występować w gruczolakach jamy ustnej i gardła, wpływając na ryzyko onkologiczne rozwoju zmian złośliwych tej okolicy.

W celu zweryfikowania tej hipotezy przebadano 75 próbek tkankowych brodawczaków jamy ustnej oraz gardła pod kątem jednoczesnej obecności w nich DNA 14 typów HR HPV oraz 2 najpowszechniej występujących typów LR HPV (HPV6 i HPV11).

Dla określenia ewentualnego udziału wspomnianych wyżej typów LR HPV w patogenezie raka płaskonabłonkowego tej okolicy, równoległe wykrywano ich obecność w próbkach tkankowych pochodzących ze zmian złośliwych (57 przypadków), zarówno HR HPV pozytywnych (33 przypadki), jak i HR HPV negatywnych. W każdym przypadku

aktywność biologiczna wirusów z grupy HR HPV potwierdzana była immunohistochemicznie, analogicznie jak w pozostałych omawianych pracach.

Obecność genomu LR HPV bez względu na typ potwierdzona została w 56% przebadanych gruczolaków, przy czym infekcje pojedynczym typem HPV6 stanowiły 17%, a typem HPV11 43% wszystkich LR HPV-pozytywnych gruczolaków. W pozostałych przypadkach stwierdzono ko-infekcję obydwoma typami HPV6/HPV11. W żadnej z próbek utkania gruczolaków nie stwierdzono obecności genomu żadnego z 14 wykrywanych typów HR HPV ani nie zaobserwowano charakterystycznego dla infekcji HR HPV odczynu barwnego p16(INK4A) w badaniu immunohistochemicznym.

Co ciekawe, w grupie chorych z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego wykryto tylko jeden przypadek infekcji typem o niskim potencjale onkogennym. Był to typ HPV11 a przypadek tego raka nie był związany z infekcją HPV wysokiego ryzyka onkogenego.

Konkludując, można stwierdzić, że odmiennie niż w przypadku zmian brodawczakowatych okolic ano-genitalnych, równoczesne infekcje typami HPV o wysokim i niskim potencjale onkogennym w brodawczakach jamy ustnej i gardła spotykane są niezwykle rzadko lub nie występują w ogóle. Co więcej, infekcje te wydają się wzajemnie wykluczać, o czym świadczy praktyczny brak obecności DNA typów o niskim potencjale onkogennym w zmianach złośliwych.

*ad.5 [Mirosław Śnietura, Liliana Chelmecka-Wiktorczyk, Sławomir Pakuła, Agnieszka Kopeć, Wojciech Pigłowski, Grażyna Drabik, Bogdan Kosowski, Łukasz Wyrobek, Agata Stanek-Widera, Walentyna Balwierz](#)
[Vertically transmitted HPV-dependent squamous cell carcinoma of the external auditory canal: Case report of a child.](#)
[Strahlentherapie und Onkologie. 2017;193\(2\):156-161](#)*

Rak płaskonabłonkowy okolicy głowy i szyi występuje głównie w wieku dorosłym. Przypadki zachorowań na ten nowotwór w wieku dziecięcym uznawane są za rzadkie. Najczęstszą lokalizacją pierwotnych zmian raka płaskonabłonkowego głowy i szyi są struktury anatomiczne początkowych odcinków układu oddechowego i pokarmowego. Jedynie poniżej 1% zachorowań na ten nowotwór u dorosłych wywodzi się ze struktur ucha zewnętrznego w tym zewnętrznego przewodu słuchowego.

W omawianej pracy prezentowany jest przypadek raka płaskonabłonkowego zewnętrznego przewodu słuchowego u małego dziecka i zgodnie z wiedzą autorów jest to pierwszy na świecie taki opis. Co więcej, jest on bardzo istotny z co najmniej trzech powodów:

- potwierdzona została po raz pierwszy możliwość udziału w patogenezie raka płaskonabłonkowego u dziecka wirusa brodawczaka ludzkiego o wysokim potencjale onkogennym,
- wykazano możliwość przeniesienia w czasie życia płodowego infekcji tym wirusem od matki chorej na raka szyjki macicy na dziecko, u którego rozwinął się HPV-zależny nowotwór złośliwy,
- pomyślny przebieg choroby u dziecka, pomimo początkowego jej znacznego zaawansowania, może wskazywać na odmienną biologię HPV-zależnych raków płaskonabłonkowych głowy i szyi, także w wieku dziecięcym oraz w innej niż najczęściej spotykane u dorosłych lokalizacji.

Na potrzeby niniejszej pracy zebrane zostały dane kliniczne dotyczące ciąży, sposobu jej rozwiązania, przebiegu choroby nowotworowej u matki oraz materiał histopatologiczny z utkaniem raka szyjki macicy do badań molekularnych i immunohistochemicznych. W odniesieniu do dziecka zebrano dane kliniczne dotyczące diagnostyki histopatologicznej, badań obrazowych, zastosowanego leczenia i dalszego przebiegu choroby. Zgromadzono także materiał tkankowy w postaci bloczków parafinowych z ogniska pierwotnego w przewodzie słuchowym oraz przerzutów do lokalnych węzłów chłonnych w celu weryfikacji histopatologicznej i wykonania badań molekularnych oraz immunohistochemicznych.

Z bloczków parafinowych izolowano genomowe DNA oraz przygotowywano skrawki histologiczne barwione techniką hematoksylina-eozyna oraz immunohistochemicznie na obecność białka p16(INK4A). W uzyskanych izolatach metodą RealTime PCR wykrywano obecność 14 typów HPV o wysokim potencjale onkogennym.

We wszystkich badanych próbkach DNA, zarówno pochodzących od matki, jak i od dziecka wykryto obecność genomu wirusa tego samego typu HPV31. Co ciekawe, był to typ wykazujący znacząco mniejszy potencjał złośliwości w porównaniu do HPV16 oraz jest

trzeci pod względem częstości wykrywania w rakach szyjki macicy w populacji europejskiej. Również aktywność biologiczna wirusa została potwierdzona we wszystkich badanych wycinkach w badaniu immunohistochemicznym.

Pomimo znacznego, lokalnego zaawansowania choroby (masywny naciek sąsiednich struktur kostnych i przerzuty do lokalnych węzłów chłonnych) w wyniku zastosowanego leczenia, obejmującego postępowanie chirurgiczne, radioterapię i leczenie systemowe uzyskano całkowitą remisję, a okres bez objawów choroby w momencie publikacji wynosił ponad 6 lat.

ad.6 Agnieszka Mazurek, Tomasz Rutkowski, Mirosław Śnietura, Wojciech Pigłowski, Rafał Suwiński, Krzysztof Składowski
Detection of circulating HPV16 DNA as a biomarker in the blood of patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma.
Head & Neck. 2019;41(3):632-641

Konieczność oceny statusu HR HPV w rakach płaskonabłonkowych gardła środkowego ze względu na odmienne, bardziej pomyślne rokowanie w tej grupie chorych jest przyczyną poszukiwania nowych metod wykrywania wirusa w tkance guza. Z drugiej strony nie zawsze istnieje łatwy dostęp do materiału tkankowego, zwłaszcza w sytuacji całkowitych wyleczeń miejscowych i pojawieniem się wznów węzłowych. Rozwiązaniem nie pozbawionym jednak wad w takim przypadku, może być biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (BAC). Odmienne podejście do problemu stanowi próba wykrycia wolnego, krążącego DNA wirusa we krwi lub osoczu pacjenta. Jest to metoda mało obciążająca, a dodatkowo badanie może być powtarzane wielokrotnie w trakcie leczenia i okresie obserwacji w celu monitorowania ewentualnych nawrotów.

W związku z tym, celem pracy było wykazanie ilościowych zależności pomiędzy DNA wirusa HPV16 wykrywanych w tkankach guza oraz osoczu u tych samych pacjentów oraz pomiędzy ilością wolnego krążącego DNA wirusa HPV16 (cfHPV16) w osoczu, a innymi czynnikami histo-klinicznymi. Do badania zakwalifikowano 63 pacjentów, dla których metodą ilościowego PCR określano ładunek wirusa w osoczu oraz tkance guza.

cfHPV16 wykryty został w osoczu w 24 przypadkach spośród 29 sklasyfikowanych jako HPV-pozytywne na podstawie statusu HPV16 w guzie pierwotnym, co odpowiada 72% czułości. W żadnym przypadku sklasyfikowanym jako HPV-negatywny na podstawie

badania guza pierwotnego nie wykryto cfHPV16, co dopowiada 100% swoistości metody. Pojawienie się cfHPV16 związane było z zajęciem węzłów chłonnych. W żadnym przypadku o stopniu zaawansowania N0 nie udało się wykryć DNA wirusa w osoczu. cfHPV16 częściej wykrywany był także u niepalących, a guzy w tej grupie chorych charakteryzowały się większym ładunkiem wirusa. Występował również wyraźny, dodatni związek pomiędzy wielkością guza pierwotnego oraz ładunkiem wirusa w jego utkaniu, a możliwością jego wykrycia w osoczu pacjenta.

W podsumowaniu należy podkreślić, że metoda określania statusu HPV raka płaskonabłonkowego gardła środkowego na podstawie wykrywania wolnego, krążącego DNA wirusa w osoczu chorych charakteryzuje się bardzo dobrą swoistością, niestety mniejszą czułością, zwłaszcza w mniej zaawansowanych stadiach choroby. Czynnikiem determinującym jej czułość wydaje się być zaawansowanie węzłowe, co może implikować jej przydatność do monitorowania niewyleczeń i wznów węzłowych, kwestia ta wymaga jednak dalszych badań. Interesujące może być też poszukiwanie DNA wirusa we frakcji komórkowej krwi chorych, a zwłaszcza w krążących komórkach nowotworowych, co leży w zakresie zainteresowań i najbliższych planów badawczych habilitanta.

Podsumowanie

Przedmiotem wieloletnich zainteresowań habilitanta i za razem tematem przewodnim prezentowanego cyklu było zbadanie roli wirusa brodawczaka ludzkiego w nowotworach wybranych lokalizacji pozagenitalnych, głównie w obrębie układu pokarmowego i oddechowego, pod kątem praktycznego wykorzystania płynących z badań wniosków w diagnostyce i/lub leczeniu chorych na nowotwory HPV-zależne.

Celem dwóch pierwszych prac cyklu było jednoznaczne wyjaśnienie roli HR HPV w patogenezie raków żołądka i jelita grubego, czyli narządów bezpośrednio sąsiadujących z lokalizacjami, w których rola HPV jako karcinogenu, jest przynajmniej w części przypadków udowodniona (przełyk i odbyt). Na podstawie uzyskanych wyników własnych oraz części innych autorów, można z dużym prawdopodobieństwem stwierdzić, iż udział wirusa brodawczaka ludzkiego o wysokim potencjale onkogennym w patologii gruczolakoraków żołądka i jelita grubego w populacji europejskiej jest niewielki lub żaden.

Analogicznie, badając występowanie typów HPV o niskim i wysokim potencjale onkogennym w zmianach brodawczakowatych jamy ustnej i gardła stwierdziłem, że infekcja typami o niskim potencjale onkogennym nie współistnieje z infekcją typami o wysokim potencjale onkogennym, jak jest to opisywane w przypadku kłykcin kończystych, a w związku z tym nie należy zmian brodawczakowatych jamy ustnej i gardła wiązać ze zwiększonym ryzykiem onkologicznym. Co więcej, infekcje wirusami z obu grup wydają się wzajemnie wykluczać, o czym świadczy niewystępowanie typów o niskim potencjale onkogennym w materiale pochodzącym ze zmian złośliwych tej okolicy.

W pracy dotyczącej opisu przypadku potwierdzony został po raz pierwszy u dziecka, nie tylko udział w patogenezie raka płaskonabłonkowego wirusa brodawczaka ludzkiego o wysokim potencjale onkogennym, ale także możliwość przeniesienia w czasie życia płodowego infekcji tym wirusem od matki chorej na raka szyjki macicy na dziecko, wywołując u niego HPV-zależny nowotwór złośliwy. Kolejnym ważnym wnioskiem płynącym z opisywanego przypadku jest wykazanie odmiennej biologii, charakteryzującej się między innymi lepszym rokowaniem HPV-zależnych raków płaskonabłonkowych głowy i szyi, także w wieku dziecięcym oraz w innej niż najczęściej spotykane u dorosłych lokalizacji. Zgodnie z wiedzą autorów, jest to pierwszy na świecie opis tego typu przypadku, a praktycznym wnioskiem płynącym z pracy jest konieczność brania pod uwagę w praktyce klinicznej udziału HR HPV jako czynnika sprawczego w onkologii wieku dziecięcego z możliwym wpływem na ocenę rokowania.

Ostatnie dwie z omawianych prac stanowią propozycję alternatywnych metod diagnostycznych do oceny statusu HR HPV u chorych na raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. W pierwszej z nich, wykazana została duża przydatność wykrywania DNA wirusa brodawczaka w wymazie cytologicznym pobranym z gardła, jako metody alternatywnej dla oznaczeń z materiału histologicznego (100% czułości przy 97% specyficzności). Badanie, również dzięki swojej znikomej inwazyjności, wydaje się szczególnie cenne w grupie chorych, dla których nie dysponujemy materiałem histopatologicznym oraz występują problemy z wizualną identyfikacją guza. W ostatniej pracy potwierdzono możliwość wykrycia DNA HPV16 we frakcji wolnego krążącego DNA. Metoda charakteryzowała się wysoką, 100% swoistością natomiast stosunkowo niską 72% czułością. Kluczowym czynnikiem determinującym możliwość wykrycia DNA HPV16 w osoczu było zajęcie

węzłów chłonnych. Wydaje się, że metoda może mieć zastosowanie do monitorowania wznów i nawrotów u pacjentów z zaawansowaną chorobą nowotworową, co wymaga jednak zwiększenia liczności badanych grup i dłuższego czasu obserwacji. W zakresie zainteresowań habilitanta znajduje się także zbadanie możliwości wykorzystania w tym celu nowotworowych komórek krążących. Obydwa z wymienionych kierunków badań realizowane będą w najbliższej przyszłości w ramach uzyskanego finansowania grantowego.

WYNIKI PRAC Z POWYŻSZEGO CYKLU PREZENTOWANE BYŁY PODCZAS KRAJOWYCH I MIĘDZYNARODOWYCH KONGRESÓW I ZJAZDÓW NAUKOWYCH:

1. Obecność wirusa HPV w polipach gruczołowych i raku jelit grubego. 8 – 9 marca 2012, IV Kongres Współczesnej Onkologii, Poznań
2. HPV DNA in Pharyngeal Swabs As a Marker of HPV-dependent Squamous Cell Cancer of the Oropharynx. 7 – 9 lutego 2013
4th. International Conference on Innovative Approaches in Head and Neck Oncology (ICHNO), Barcelona, Spain
3. Analiza częstości występowania typów onkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego HPV w brodawczakach górnych dróg oddechowych. 10 – 12 września 2015
XVI Międzynarodowe Sympozjum Onkologia w Otolaryngologii, Poznań
4. Matczyna transmisja wirusa brodawczaka ludzkiego możliwą przyczyną rozwoju raka przewodu słuchowego u dziecka. 28–31 maja 2014
VII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Hematologii i Onkologii Dziecięcej, Olsztyn
5. Circulating HPV DNA as a Marker of Treatment Response of Head-and-Neck Cancer Patients Treated With Radiation Therapy or Chemoradiation Therapy: Molecular Biology and Therapeutics. 20 – 22 lutego 2014
Multidisciplinary head and neck cancer symposium, Scottsdale, USA
6. Circulating HPV DNA as a marker of treatment failure in patients with HPV-related head and neck cancer treated with radio(chemo)therapy. 16 – 21 września 2015
30th International Papillomavirus Conference & Clinical and Public Health Workshops, Lizbona, Portugalia

7. Circulating Cell-Free Human Papillomavirus DNA as a Marker of Treatment Outcome in Patients With HPV-Positive Squamous Cell Head and Neck Cancer After Radio(chemo) Therapy. 25 – 28 września 2016
2016 ASTRO Annual Meeting,. Boston, USA
8. Circulating HPV DNA as a marker of treatment results in patients with HPV-related head and neck cancer after radiotherapy/radio-chemotherapy.
28 lutego – 4 marca 2017
31st International Papillomavirus Conference HPV 2017, Cape Town, RPA
9. cfHPV DNA as a marker of treatment results in patients with HPV-related head and neck cancer. 16-18 marca, 2017
6th International Conference on Innovative Approaches in Head and Neck Oncology (ICHNO), Barcelona, Spain

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych (artystycznych)

Dane bibliometryczne

Oprócz przedstawionych wcześniej 6 prac, stanowiących monotematyczny cykl artykułów, jestem autorem i współautorem 30 innych prac oryginalnych opublikowanych w całości w międzynarodowych, indeksowanych czasopismach naukowych. Łącznie jestem autorem lub współautorem 39 publikacji w czasopismach i opracowaniach zbiorowych. Wyniki prac, w których brałem udział, prezentowane były podczas 30 różnych kongresów i zjazdów naukowych o krajowym i międzynarodowym zasięgu, w tym jestem pierwszym autorem doniesienia ustnego podczas 46-go dorocznego zjazdu Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej w Chicago, USA [Załącznik III.B.17].

	Współczynnik oddziaływania (IF)	Punktacja KBN/MNiSW
Cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy	13,898	160
Sumaryczny dorobek nie wchodzący w skład osiągnięcia naukowego*	44,458	490
Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: 304 (Scopus: 340)		
Indeks Hirscha według bazy Web of Science: 9 (Scopus: 9)		

* zgodnie z listą pkt. II poz. A Załącznika nr 4 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego

Tematyka pozostałych prac badawczych

Poza tematyką poruszaną w cyklu prac stanowiącym osiągnięcie naukowe moje zainteresowania związane są z następującymi zagadnieniami, które badane były i opisane zostały w kilku powiązanych ze sobą tematycznie cyklach prac:

1. Wpływ niedotlenienia tkanek na przebieg procesów patologicznych w odpowiedzi na czynniki uszkodzające.
2. Zbadanie efektów cytotoksycznych różnych czynników chemicznych w komórkach nowotworowych, w tym terapii fotodynamicznej.
3. Rola genu *PTEN* w onkogenezie oraz zastosowanie oceny jego ekspresji w charakterze czynnika prognostycznego i/lub predykcyjnego.
4. Nowe czynniki prognostyczne i predykcyjne w nowotworach jelita grubego.
5. Optymalizacja metod diagnostycznych w nowotworach tarczycy.

ad. 1 Jednym z pierwszych moich zainteresowań była rola niedotlenienia jako elementu modyfikującego przebieg procesów patologicznych w tkankach pod wpływem czynników uszkodzających jak promieniowanie jonizujące czy niedokrwienie w wyniku krwotoku. Jako współwykonawca, brałem udział w ocenie z wykorzystaniem technik komputerowej analizy obrazu lokalnego niedotlenienia na biologiczne efekty wywoływane przez napromienienie w tkankach. Efektem przeprowadzonych badań było wykazanie ochronnego wpływu przejściowego niedotlenienia na tkanki poddane działaniu promieniowania jonizującego, czego wyznacznikiem był brak kompensacyjnej proliferacji nabłonka krypt jelitowych oraz zmniejszenie peroksydacji lipidów. Efekt ten obserwowany był jedynie w zakresie niskich dawek promieniowania. Cytowane wyniki opublikowane zostały w cyklu 3 artykułów oryginalnych. [Załącznik 4 II.4, 6, 10].

W kolejnych trzech publikacjach i doniesieniu zjazdowym, jako współautor przedstawiłem wyniki badań przeprowadzonych na modelu zwierzęcym, dotyczące wpływu niedotlenienia wywołanego przez krwotok podpajęczynówkowy na neoangiogenezę w mózgu. [Załącznik 4 II.A.1, II.D.1 oraz III.B.1]. Stwierdzona została nasilona neoangiogeneza hamowana przez antagonistów receptora i konwersji endoteliny-1. Jest to bezpośredni dowód na rolę tego białka w wywoływaniu niedotlenienia w wyniku indukowanego skurczu naczyń. Innym czynnikiem, którego istotną rolę w indukowaniu skurczu naczyniowego i niedotlenienia udało się pokazać jest prozapalna interleukina IL-1beta

[Załącznik 4 II.A.11] Rola tego czynnika może być istotna także w przypadku guzów nowotworowych, ze względu na możliwość indukcji niedotlenienia i działanie protekcyjne na komórki nowotworowe w efekcie towarzyszących procesów zapalnych.

ad.2 Terapia fotodynamiczna nowotworów to metoda niszczenia komórek nowotworowych w wyniku połączenia w miejscu działania dwóch, stosunkowo mało toksycznych czynników: światła i barwnika gromadzonego przez docelowe komórki. W prezentowanych 3 kolejnych artykułach [Załącznik 4 II.A.7, 8, 12] oraz 5 doniesieniach zjazdowych [Załącznik 4 III.B.5, 7-10] przedstawione zostały wyniki badań nad biologicznymi efektami i właściwościami Photofrin'u oraz nowych pochodnych barwników porfiryńowych, pod kątem oceny ich przydatności w terapii fotodynamicznej nowotworów. W ramach prowadzonych doświadczeń in-vitro byłem odpowiedzialny za ocenę zdolności wnikania do komórek nowotworowych funkcjonalizowanych, lipofilnych pochodnych porfiryn lub ich form zamkniętych w liposomach oraz za określenie struktur subkomórkowych ich gromadzenia się. Lipofilne, funkcjonalizowane pochodne porfiryn wykazywały się dobrą zdolnością wnikania i gromadzenia się we wnętrzu komórek nowotworowych, słabszą jednak niż formy zamknięte w liposomach. Oba rodzaje chemicznych modyfikacji powodowały znaczną redukcję cytotoksyczności bez dostępu światła oraz większą niż w przypadku form niemodyfikowanych fototoksyczność. Przy pomocy analizy kolokalizacji sygnału fluorescencji, wykazane zostało gromadzenie się pochodnych porfiryn w mitochondriach, co może pośrednio potwierdzać biologiczny mechanizm działania toksycznego na drodze aktywacji drogi mitochondrialnej apoptozy. Kontynuacją wymienionych wyżej badań w najbliższym czasie jest udział habilitanta w charakterze wykonawcy w projekcie grantowym pt. „Fotoimmunoterapia – nowa strategia leczenia glejaka wielopostaciowego” finansowanym ze środków Narodowego Centrum Nauki. [Załącznik 4 II.I.2]. Odmienne podejście do terapii przeciwnowotworowej, nawiązujące częściowo do badań opisanych w punkcie 1, zostało zaprezentowane w pracy dotyczącej eksperymentalnej terapii przeciwnowotworowej z wykorzystaniem syntetycznego, zamkniętego w liposomach oligopeptydu o działaniu antynacyniowym. [Załącznik 4 II.A.13]. W badaniu tym, na modelu zwierzęcym wykazane zostało najsilniejsze działanie przeciwnowotworowe w/w peptydu stosowanego w połączeniu z doxorubicyną sprzężoną z liposomami wykazującymi powinowactwo do receptora kwasu foliowego.

ad.3 Kolejnym tematem moich długoletnich zainteresowań jest rola genu *PTEN* w patogenezie nowotworów oraz możliwość wykorzystania statusu tego genu w charakterze czynnika prognostycznego i predykcyjnego. Zbadanie roli ekspresji genu *PTEN* w rakach płaskonabłonkowych głowy i szyi stało się jednym z przedmiotów mojej pracy doktorskiej, a wyniki opublikowane zostały w pracy [Załącznik II.A.16] oraz przedstawione na 2 międzynarodowych konferencjach, w tym podczas ustnej prezentacji w trakcie 46-go dorocznego zjazdu ASCO w Chicago [Załącznik III.B.16 i 17]. Wykazałem w niej, na grupie 147 pacjentów, że silna ekspresja białka PTEN w tkance guza związana była z dłuższym okresem wyleczeń loco-regionalnych (80,9% 5-letnich wyleczeń loco-regionalnych w grupie z wysoką ekspresją PTEN wobec 52,3% wyleczeń 5-letnich w grupie o obniżonej ekspresji PTEN). W analizie wieloczynnikowej ekspresja PTEN pozostała niezależnym czynnikiem prognostycznym, obok między innymi zajęć węzłów chłonnych i marginesów chirurgicznych, lokalizacji guza, ekspresji *EGFR* i *TP53*. Zachowana ekspresja PTEN okazała się także korzystnym czynnikiem predykcyjnym w stosunku do przyspieszonej ciągłej radioterapii pooperacyjnej (pCAIR). Odsetek 5-letnich wyleczeń loco-regionalnych w grupie pacjentów z zachowaną ekspresją PTEN wynosił 92,7% wobec 70,8% w grupie z obniżoną ekspresją. Metoda względnej oceny ekspresji białka PTEN zastosowana w omawianej pracy oraz nowatorska teoria Pandolfi'ego,¹⁰ dotycząca nieliniowych zależności pomiędzy ekspresją niektórych genów supresorowych, a efektami biologicznymi z nią związanymi (obligatoryjna haploniewydolność *ang. obligate haploinsufficiency*) stały się powodem opracowania algorytmu oraz aplikacji w środowisku ImageJ (NIH) do ilościowej, względnej, wspomaganego komputerowo oceny ekspresji genu *PTEN* w preparatach immunohistochemicznych. W proponowanej metodzie za punkt odniesienia przyjmowana jest ekspresja PTEN w komórkach podstawnych nabłonka wielowarstwowego płaskiego, a poziom ekspresji wyrażany jest w postaci odsetka wartości referencyjnej. Działanie algorytmu zweryfikowane zostało na liniach komórkowych o znanym statusie genu *PTEN* oraz na próbkach tkankowych gruczolakoraków jelita grubego. Weryfikacja metody stała się przedmiotem pracy magisterskiej [Załącznik III.J.1], a wyniki opublikowane zostały w czasopiśmie indeksowanym. [Załącznik II.A.26] W kolejnych 2 pracach i doniesieniu zjazdowym analizowane były profile

¹⁰ Berger AH, Knudson AG, Pandolfi PP (2011) A continuum model for tumour suppression Nature. 10;476(7359):163-9

ekspresji białka PTEN w gruczolakach oraz gruczolakorakach jelita grubego oraz podjęto próbę zbadania zależności pomiędzy ekspresją PTEN, a znanymi czynnikami histopatologicznymi i klinicznymi związanymi z rozwojem nowotworów tej okolicy. Stwierdzono średnio niższy poziom ekspresji PTEN w gruczolakorakach w porównaniu z prawidłową błoną śluzową, jak i utkaniem gruczolaków (polipów gruczołowych). W przypadku guzów złośliwych częściej występowała całkowita utrata ekspresji PTEN niż w pozostałych przypadkach, natomiast w gruczolakach częstsze było obniżenie ekspresji tego białka. [Załącznik 4 II.A.17,18 oraz III.B.19]

ad.4 Obok badań roli genu *PTEN* w onkopatologii jelita grubego wymienionych powyżej, brałem udział w poszukiwaniu innych czynników prognostycznych dla nowotworów tej okolicy. Nowym kierunkiem moich zainteresowań jest oddziaływanie nowotworu z mikrośrodowiskiem, a w szczególności z układem immunologicznym chorego. Pierwsze badanie z tego cyklu dotyczyło związku intensywności nacieków z makrofagów związanych z guzem (TAM) oraz limfocytów T regulatorowych (Treg) z przebiegiem klinicznym u chorych na zaawansowanego raka jelita grubego w stopniu IIA, IIIB oraz IIIC. TAM i Treg wykrywane były immunohistochemicznie jako komórki o immunoprofilu odpowiednio CD68⁺/iNOS⁻ oraz CD8⁺/FoxP3⁺. Występowanie intensywnych nacieków TAM w podścielisku guza nowotworowego związane było z krótszym czasem wolnym od choroby (DFS) oraz krótszym całkowitym czasem przeżycia (OS). Odwrotna tendencja występowała w przypadku nacieków zlokalizowanych we fronie guza. Podobnie, intensywne naciekanie podścieliska guza przez limfocyty Treg korelowało z krótszym DFS oraz OS. Względne ryzyko wznowy i śmierci z powodu choroby było ponad 12-krotnie większe u pacjentów z intensywnymi naciekaniami Treg. Wyniki badań opublikowane zostały w czasopiśmie indeksowanym [Załącznik 4 II.A.27] oraz przedstawione na konferencji międzynarodowej [Załącznik 4 III.B.24], a także były przedmiotem rozprawy doktorskiej [Załącznik 4 III.J.2]. Obecnie, analogiczne badania przeprowadzone zostały przeze mnie i współpracowników na grupie chorych z rakiem płaskonabłonkowym gardła środkowego w kontekście statusu HPV u tych chorych, a publikacja wyników jest w trakcie przygotowywania. Jest to również częściowo tematyka rozprawy doktorskiej, w której jestem promotorem pomocniczym [Załącznik 4 III.K.2]

ad.5 Kolejnym tematem moich zainteresowań jest diagnostyka nowotworów tarczycy, w tym standardy dotyczące aspiracyjnej biopsji cienkoigłowej. Jestem współautorem cyklu 4 publikacji [Załącznik II. 22-25], których celem była analiza korespondencji wyników biopsji cienkoigłowych i rozpoznań histopatologicznych z materiału pooperacyjnego, dla czterech (III-VI) kategorii diagnostycznych w klasyfikacji Bethesda. Wnioski płynące z analizy:

- Rozpoznanie zmiany pęcherzykowej bliżej nieokreślonej (FLUS) przy braku wskazań klinicznych nie powinno być podstawą do leczenia chirurgicznego.
- Wysoka pozytywna wartość predykcyjna w przypadku rozpoznania „podejrzenie nowotworu pęcherzykowego” (PPV=73%) upoważnia do wdrożenia leczenia chirurgicznego w każdym przypadku tego rozpoznania.
- Rozpoznanie kategorii V – „podejrzenie złośliwości” charakteryzuje się wysoką, pozytywną wartością predykcyjną, sięgającą 75% i powinno być wskazaniem do leczenia chirurgicznego.
- Absolutna, 100% specyficzność charakteryzująca rozpoznanie kategorii VI z potwierdzeniem przez drugiego, niezależnego patologa wskazuje na bezzasadność powtarzania biopsji w celu potwierdzenia rozpoznania.

Ponadto, współpracowałem przy realizacji badań mających na celu wykazanie związków pomiędzy profilami ekspresji genów w rakach tarczycy, a obserwowanymi zmianami morfometrycznymi oraz opracowaniu opisu morfometrycznych cech specyficznych dla raków tarczycy. Efektem tych prac były 3 doniesienia zjazdowe [Załącznik III.B.12, 13, 15]. Uczestniczę także aktywnie w realizacji projektu MILESTONE w zakresie cyfrowego obrazowania raka tarczycy. [Załącznik II.I.1]

Udział w grantach i badaniach klinicznych

1. Projekt „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego” (ang. Molecular diagnostics and Imaging in individualized therapy for breast, Thyroid and prostate cancer, MILESTONE), finansowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu Profilaktyka i leczenie chorób cywilizacyjnych STRATEGMED, okres realizacji 2014 – 2019, udział w charakterze wykonawcy.

2. Projekt „Fotoimmunoterapia - nowa strategia leczenia glejaka wielopostaciowego” finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu OPUS 13, ID projektu: 2017/25/B/NZ5/00039, okres realizacji 2018 – 2020, udział w charakterze wykonawcy.
3. Wieloośrodkowe, randomizowane, podwójnie zaślepienie, kontrolowane przy użyciu placebo badanie kliniczne fazy III atezolizumabu (przeciwciała anty PD-L1) jako terapii adjuwantowej po radykalnym lokalnym leczeniu u pacjentów z lokalnie zaawansowanym rakiem płaskonabłonkowym głowy i szyi o wysokim ryzyku. Numer protokołu WO40242, okres realizacji 2018 - 2025, udział w charakterze wykonawcy
4. Prowadzone metodą otwartej próby, wieloośrodkowe, globalne, realizowane metodą „koszykową” (basket study) badanie fazy 2 entrektynibu w leczeniu pacjentów z miejscowo zaawansowaną lub uogólnioną postacią guzów litych z obecnością rearanżacji genów NTRK1/2/3, ROS1 lub ALK. Numer protokołu G040782, okres realizacji 2015 – 2020, udział w charakterze wykonawcy

Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski

Udział w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych, działalność ekspercka

1. Obok aktywności naukowej od dłuższego czasu zaangażowany jestem w działalność związaną z wdrażaniem molekularnych metod diagnostycznych oraz procedur kontroli jakości w patomorfologii.
2. Brałem udział we wdrażaniu do rutynowej diagnostyki technik hybrydyzacji in-situ w kilku dużych ośrodkach onkologicznych na terenie kraju.
3. Jestem pomysłodawcą oraz wieloletnim członkiem komitetu organizacyjnego i naukowego corocznej, organizowanej nieprzerwanie przez 12 lat konferencji pt. „Warsztaty Patologii Molekularnej” [zał.4 III.C.1 i 2], w ramach których byłem koordynatorem zewnętrznej, międzylaboratoryjnej kontroli jakości dla oznaczeń statusu genów ALK i HER2 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in-situ.
4. Wygłosiłem kilka referatów dotyczących diagnostyki metodą FISH oraz standardów w diagnostyce molekularnej [zał.4 II.K.1-4 i 6]. Jestem także współautorem opracowania standardów dotyczących oceny statusu genu HER2 metodą FISH [zał.4 II.A.20]

5. Byłem członkiem Komisji ds. Standaryzacji Badań Molekularnych przy Konsultancie Krajowym ds. Genetyki Klinicznej. Efektem prac Komisji była publikacja wytycznych dla laboratoriów genetyki nowotworów litych. [zał.4 II.D.3]

Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski

1. Wykładowca w ramach Populacyjnego programu profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy. Wygłosiłem cykl wykładów dla pielęgniarek i położnych z zakresu diagnostyki cytologicznej i roli HPV w raku szyjki macicy. [Załącznik 4 III.A.1]
2. Wykładowca podczas kursu CMKP dla lekarzy w ramach projektu „Rozwój kształcenia specjalizacyjnego lekarzy w dziedzinach istotnych z punktu widzenia potrzeb epidemiologiczno-demograficznych kraju” finansowanego ze środków UE. Tytuł kursu: Podstawy genetyki nowotworów, diagnostyka patomorfologiczna, leczenie skojarzone i badania kliniczne. [Załącznik 4 III.A.2]
3. Wykładowca podczas kursu CMKP „Cytologia ginekologiczna dla diagnostów laboratoryjnych i cytotechników” [Załącznik 4 III.A.3]
4. Wykłady z przedmiotu „Nowoczesne techniki diagnostyczne” dla studentów kierunku Pielęgniarstwo na Wydziale Nauk o Zdrowiu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

Opieka naukowa nad studentami

1. Opieka merytoryczna w charakterze promotora pomocniczego przy wykonaniu pracy magisterskiej pt. "Nowy algorytm ilościowej oceny ekspresji białka PTEN w wybranych liniach komórkowych i guzach nowotworowych" na kierunku Biotechnologia, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Organicznej i Biotechnologii Politechniki Śląskiej w Gliwicach. [Załącznik 4 III.J.1]
2. Opieka merytoryczna przy realizacji w ramach studiów doktoranckich pracy pt. "Ocena ekspresji CD8, CD68, FoxP3 i iNOS w tkance guza oraz ich wartość prognostyczna w gruczolakoraku jelita grubego" zakończona nadaniem stopnia doktora nauk medycznych uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. [Załącznik 4 III.J.2]
3. Opieka merytoryczna przy wykonywaniu pracy doktorskiej pt. "Detekcja zmian wywołanych zakażeniem wirusem brodawczaka ludzkiego HR-HPV w raku

płaskonabłonkowym gardła środkowego za pomocą mikrospektroskopii Ramana we współpracy z wielowymiarową analizą statystyczną" realizowaną w Instytucie Fizyki im. Augusta Chełkowskiego, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. [Załącznik 4 III.J.3]

Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego

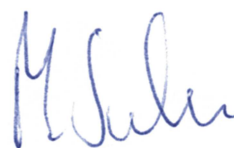
1. Opieka naukowa w charakterze promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim pt. „Rola infekcji HPV niskiego ryzyka onkogennego u chorych na wybrane nowotwory płaskonabłonkowe jamy ustnej i gardła” prowadzonym przez Wydział Lekarski w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. [Załącznik 4 III.K.1]
2. Opieka naukowa w charakterze promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim pt. „Wirus brodawczaka ludzkiego jako czynnik etiologiczny i prognostyczny dla chorych na raka gardła środkowego leczonych z zastosowaniem radioterapii samodzielnej lub w skojarzeniu z chemioterapią” prowadzonym przez Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie oddział w Gliwicach. [Załącznik 4 III.K.2]
3. Opieka naukowa w charakterze promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim pt. „Ocena wartości prognostycznej i predykcyjnej ekspresji genów *PTEN* i *TP53* u chorych z zaawansowanym rakiem jelita grubego leczonych terapią celowaną anty-EGFR w monoterapii lub terapii skojarzonej” prowadzonym przez Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, [Załącznik 4 III.K.3]

Inne osiągnięcia

1. Udział w realizacji budowy i wyposażenia nowego zaplecza laboratoryjnego dla Zakładu Patologii Nowotworów Centrum Onkologii-Instytutu oddział w Gliwicach w ramach projektu „Poprawa jakości i efektywności diagnostyki onkologicznej poprzez budowę ośrodka diagnostyczno-terapeutycznego przy Centrum Onkologii w Gliwicach”

finansowanego z funduszy Unii Europejskiej - Program Operacyjny Infrastruktura i Środowisko 2014-2020

2. Udział w charakterze wykonawcy w 12 badaniach statutowych wpisanych do Planu Naukowego Centrum Onkologii-Instytutu



podpis habilitanta